Aus der Medizinischen Klinik
Abteilung Innere Medizin II der Universität Tübingen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller

NACHWEIS UND KLINISCHE RELEVANZ EINES NEUEN KOMPLEMENTBINDENDEN ANTIKÖRPERS — ANTI-M 8 — BEI PATIENTEN MIT PRIMÄR BILIÄRER ZIRRHOSE.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
ULRIKE WECKENMANN
aus Stuttgart-Bad Cannstatt

1986

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543903_0095

Aus der Medizinischen Klinik
Abteilung Innere Medizin II der Universität Tübingen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller

NACHWEIS UND KLINISCHE RELEVANZ EINES NEUEN KOMPLEMENTBINDENDEN ANTIKÖRPERS — ANTI-M 8 — BEI PATIENTEN MIT PRIMÄR BILIÄRER ZIRRHOSE.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
ULRIKE WECKENMANN
aus Stuttgart-Bad Cannstatt

1986

Dekan: Professor Dr. J. Dichgans
1. Berichterstatter: Professor Dr. P. A. Berg
2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. K.-H. Wiedmann

Druck: Zeeb-Druck, Tübingen 7 (Hagelloch)

INHALT

KAPITEL	SEITE
VORWORT	1
ZUSAMMENFASSUNG	3
EINLEITUNG	4
METHODE	9
PATIENTEN	17
ERGEBNISSE	20
DISKUSSION	33
LITERATUR	38
LEBENSLAUF	

VORWORT

Nachdem die Medizin in ihrer Form, wie sie allgemein gelehrt und anerkannt wird, hinsichtlich ihrer therapeutischen Erfolge bei vielen Erkrankungen wesentliche Fortschritte gemacht hat, bemerken Wissenschaftler und klinisch tätige Ärzte immer mehr, daß therapeutische Erfolge nicht nur durch Medikamente und Maßnahmen bedingt sind, die von außen an den Organismus herangetragen werden. Man besinnt sich zunehmend auf die Selbstheilungskräfte des Körpers, die ihn ständig vor schädigenden Umwelteinflüssen schützen und die Homöostase des Organismus in seiner Struktur und Funktion bewahren.

Einen meßbaren und mit naturwissenschaftlichen Methoden erfaßbaren Teil dieser protektiven Kräfte stellt das Immunsystem dar, dessen Erforschung zu neuen medizinischen Denk- und Therapieansätzen geführt hat.

Zur Erforschung des Immunsystems stehen eine Vielzahl biologischer, biochemischer, chemischer und physikalischer Methoden zur Verfügung. Damit ist es möglich, normale und fehlerhafte Funktionen des Immunsystems zu erfassen. Bei einer Vielzahl von Erkrankungen, Tumoren, chronisch-entzündlichen Erkrankungen, den sogenannten Kollagenosen, Erkrankungen der Leber, des blutbildenden Systems und des Endokriniums, um nur einige Beispiele zu nennen, spielen immunologische Mechanismen eine Rolle.

Die Bedeutung immunologischer Mechanismen konnte in letzter Zeit insbesondere bei Lebererkrankungen gezeigt werden, z.B. bei der lupoiden Hepatitis (CAH) und der primär biliären Zirrhose (PBC). Vor allem die Charakterisierung antimitochondrialer Antikörper (AMA) hat dazu beigetragen, die PBC bereits in frühen, asymptomatischen Stadien zu diagnostizieren.

Seither konnten verschiedene Typen der AMA bei der PBC nachgewiesen werden. Meine Aufgabe war es, die klinische Relevanz eines neuentdeckten Antikörpers (Ak) - anti-M8 - bei der PBC zu untersuchen.

Neben dieser sehr speziellen Fragestellung gab mir diese Arbeit Gelegenheit, mich auf dem Gebiet der Immunologie einzuarbeiten und zu informieren.

Mein herzlicher Dank für die geduldige und intensive Unterstützung der Arbeit gilt ganz besonders meinem Doktorvater Herrn Professor P.A. Berg, der stets Zeit hatte, Probleme und unerwartete Ergebnisse zu diskutieren und mir Mut zusprach, wenn die Versuche nicht ihren gewünschten Gang gingen.
Herzlichen Dank an Herrn E. Stechemesser und Herrn Dr. N. Brattig für die Hilfe bei der Lösung versuchstechnischer Probleme, an Herrn P. Weber für die Etablierung und großzügige Weitergabe seiner Methode der Antigenpräparation, an Herrn Professor G. Klöppel, Pathologisches Insitut der Universität Hamburg und Herrn Dr. med. M. Kirchhof, DRK-Krankenhaus Hamburg für die freundliche Zusendung von histologischen und klinischen Daten einer Gruppe der von mir untersuchten Patienten.
Ebenso danke ich allen Mitarbeitern des Labors Professor Berg, denn nur die Zusammenarbeit in einer Gruppe, in der ein ständiger geistiger Austausch in freundschaftlicher Atmosphäre möglich ist, kann zu fruchtbarer Arbeit führen.

Teile dieser Arbeit wurden auf dem 88. Internistenkongress 1982 in Wiesbaden vorgetragen (38).
Die Untersuchungen wurden durchgeführt mit Untersützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Be 431.

Tübingen, im Winter 1986

ZUSAMMENFASSUNG

Bei 77 von 195 Patienten (39,49%) mit einer histologisch, klinisch und serologisch nachgewiesenen primären biliären Zirrhose (PBC) sowie bei 27 von 28 Patienten (96%) mit einer Mischform (MF) konnte ein komplementbindender Antikörper (Ak) gegen ein weiteres mitochondriales Antigen, M8, nachgewiesen werden. Seren von 3o Patienten mit chronisch aggressiver Hepatitis (CAH), 9 Patienten mit Lupus erythematodes und 8 Patienten mit alkohol-toxischer Zirrhose waren anti-M8 negativ.

M8 wurde aus einem Zellextrakt von Schweinenieren durch zweimalige Säulenchromatographie und Gradientenzentrifugation gewonnen. Anti-M8 positive und negative Patienten unterschieden sich nicht hinsichtlich der klinisch-chemischen Werte für IgM, IgA, alkalische Phosphatase, GOT, GPT und Serumbilirubin. Nur in der Gruppe der klinisch und serologisch definierten PBC konnte bei anti-M8 positiven Patienten ein höherer IgG-Spiegel gefunden werden. Anti-M8 positive PBC-Patienten besaßen häufiger Ak gegen Kerne und/oder glatte Muskulatur (ANA, SMA) (61%) als anti-M8 negative (39%).

Bei Verlaufsbeobachtungen an 12 anti-M8 positiven und 12 anti-M8 negativen Patienten fand sich, daß bei den anti-M8 positiven nach 4-9 Jahren Beobachtungszeit vier im Stadium IV verstorben waren, vier weitere das Stadium IV erreicht hatten, sich drei im Stadium III befanden und nur ein Patient nach 5 Jahren noch im Stadium II war. Bei den anti-M8 negativen war bei 4-13 Jahren Beobachtungszeit kein Patient verstorben, nur zwei waren ins Stadium IV getreten, vier Patienten waren im Stadium III und sechs Patienten waren nach 4-8 Jahren noch im Stadium II.

Somit konnte anti-M8 als prognostischer Marker gewertet werden, der einen progredienteren Krankheitsverlauf der PBC anzeigt. Die anti-M8 positive Untergruppe kann dadurch hinsichtlich ihrer Krankheitsaktivität zwischen der relativ benignen "klassischen" PBC und der rasch progredienten MF eingeordnet werden.

EINLEITUNG

Die PBC ist eine chronische, nicht eitrige, destruktive Cholangitis (CNDC), die mit einer fortschreitenden Zerstörung der kleinen und mittleren Gallengänge einhergeht. Sie befällt meist Frauen im mittleren Lebensalter. Die PBC kann in folgenden Symptomen zum Ausdruck kommen: Müdigkeit, Oberbauchbeschwerden, Pruritus und in späteren Stadien Ikterus. Typische Symptome anderer Kollagenerkrankungen können die PBC begleiten: Gelenkbeschwerden, sklerodermie-ähnliche Hautveränderungen und das "dry-gland"-Syndrom. Hierbei ist die Sekretion exokriner Drüsen, wie Tränen- und Speicheldrüsen und auch das Pankreas vermindert (14).

Histologisch lassen sich nach Scheuer vier Stadien unterscheiden (33):

Stadium I: fokale Destruktion der kleinen und mittleren Gallengänge, Granulome.

Stadium II: kompensatorische Gallengangsproliferation und beginnende Fibrose.

Stadium III: Fibrose, Rückgang der entzündlichen Infiltrate, periportale Cholestase.

Stadium IV: Zirrhose.

Im ersten Stadium bleibt die Entzündungsreaktion auf die Periportalfelder beschränkt. Die Basalmembran der kleinen und mittleren Gallengänge ist zerstört. Lymphozyten, Histiozyten, Epitheloidzellen, Plasmazellen und Eosinophile sammeln sich an geschädigten Gallengängen. Granulome im Portalfeld können vorkommen (16, 23).

Im zweiten Stadium dehnt sich der Entzündungsprozess aus und greift über die Portalfelder hinaus. Piecemealnekrosen können gefunden werden, was in manchen Fällen die Abgrenzung zur chronisch-

aggressiven Hepatitis (CAH) schwierig macht (26).

Im dritten Stadium treten fibrotische Septen an die Stelle der entzündlichen Infiltrate und es entsteht eine periportale Cholestase.

Im vierten Stadium kann die Zirrhose vom mikronodulären oder wie bei der CAH vom makronodulären Typ sein. Die Unterscheidung von der CAH ist durch die Verminderung der Gallengänge möglich. Histologische Übergangsformen zwischen CAH und PBC kommen vor (22).

Serologisch wurden bei der PBC Auto-Ak beobachtet. In der Immunfluoreszenz (IFL) konnten gelegentlich Ak gegen Kerne (ANA) und glatte Muskulatur (SMA) beobachtet werden (18). Bei 85-90% der Patienten fanden sich jedoch Ak gegen Mitochondrien (AMA) (28). AMA treten zwar nur bei 1-5% gesunder Kontrollpersonen auf (4, 10, 31), kommen aber auch bei anderen Erkrankungen vor: Syphilis im Stadium II, Kollagenosen, Cardiomyopathien und Myocarditis, sowie bei medikamentös induzierten Hepatitiden und bei dem Pseudolupus-Syndrom (1).
AMA sind nicht krankheitsspezifisch für die PBC. Bei der Untersuchung der AMA konnte man jedoch verschiedene mitochondriale Ak unterscheiden und fand einen PBC-spezifischen Ak gegen ein nicht-spezies-, nicht-organspezifisches Ag, M2. M2 ist auf der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert und mit der ATPase assoziiert (1, 2, 3, 6, 24, 32). Anti-M2 wurde bisher in Seren von 96% der Patienten mit PBC nachgewiesen, sein Vorhandensein sichert die Diagnose, sein Fehlen macht sie eher unwahrscheinlich (1). Desweiteren gelang es bei einem Teil der anti-M2 positiven PBC-Patienten, einen Ak nachzuweisen, der mit einem Ag auf der äußeren Mitochondrienmembran reagierte und als M4 bezeichnet wurde (1, 7, 8). Diese anti-M2/anti-M4 positiven Patienten zeigten histologisch neben den typischen Gallengangsläsionen vermehrt Piecemealnekrosen und einen ausgedehnteren Leberparenchymschaden (3, 20, 21, 22, 29). ANA und SMA waren bei ihnen häufiger als bei anti-M2 positiv/

anti-M4 negativen Patienten mit "klassischer" PBC. Nicht nur histologisch und serologisch, sondern auch in prognostischer und therapeutischer Hinsicht nehmen diese Mischformen (MF) eine Mittelstellung ein zwischen der rasch progredienten CAH und der benigneren PBC (13).
Die Ätiologie beider Formen der CNDC ist unbekannt. Eine infektiöse Genese ist denkbar, denn auch bei anderen Infektionskrankheiten, z.B. bei der Syphilis (1) oder Lepra (9), lassen sich Auto-Ak nachweisen, die Einfluß auf den Krankheitsverlauf haben können. Durch einen Erreger kann eine immunologische Fehlregulation induziert werden, die eine vermehrte Bildung von Auto-Ak zulässt. Auffallend sind bei der PBC die verschiedenartigen mitochondrialen Ak. Ein neuer organspezifischer Ak, anti-M9, wurde entdeckt, der mit Ag der äußeren Mitochondrienmembran reagiert. Anti-M9 lässt sich nachweisen in frühen Stadien der PBC, aber auch bei 50% der Verwandten von PBC-Patienten und bei 63% des Laborpersonals, das Umgang mit PBC-Seren hat. Aber nur 17% gesunder Personen und des Personals anderer hämatologischer Labors sind anti-M9 positiv (5). Auch das gehäufe Auftreten anderer AMA lässt sich bei Verwandten und Bekannten von PBC-Patienten nachweisen (11). Diese Befunde erhärten die Hypothese einer exogenen Genese der CNDC.

Durch verbesserte histologische und serologische Bestimmungsmethoden ist eine frühere und häufigere Erkennung dieser vormals selten beschriebenen Erkrankung möglich. Der klinische Verlauf der PBC ist sehr unterschiedlich. Vom Zeitpunkt des Auftretens erster Symptome oder der Diagnosestellung bis zum Tode durch Leberkoma, Oesophagusvarizenblutung oder interkurrente Infekte können zwischen 6 und mehr als 20 Jahre liegen. Rasch progrediente werden neben benignen Verläufen beobachtet, die Erkrankung kann in einem Stadium über Jahre stagnieren, auch jahrelang asymptomatische Formen treten auf (16, 20).

Besonders im Hinblick auf therapeutische Maßnahmen und ihre Erfolge ist die Frage der Krankheitsprognose von Bedeutung. Eine kausale Therapie wurde bisher nicht gefunden, alle Versuche einer immunsuppressiven Therapie mit Corticosteroiden, Azathioprin, D-Penicillamin oder Cyclosporin A waren meist sehr unbefriedigend. Die immunsuppressive Therapie belastetete die Patienten durch ihre starken Nebenwirkungen, eine Besserung der Symptome wurde selten, ein Ausheilen der Erkrankung bisher nicht beobachtet (12, 13, 35).

Es wurden verschiedene Versuche unternommen, Parameter herauszufinden, die Rückschlüsse auf die Prognose der PBC zuließen. Bei dem meist günstigen Krankheitsverlauf ist eine nebenwirkungsreiche Therapie nur in späteren Stadien oder bei progredienten Verlaufsformen gerechtfertigt.

Klöppel et al. (20, 21, 22) unterschied zwei verschieden progrediente Verlaufsformen der PBC, die ein Korrelat in der Pathohistologie zeigten: eine relativ benigne Form der PBC mit Verläufen bis über 20 Jahre und die zu einer hypertrophen, mikronodulären Zirrhose führte und eine rasch progrediente Form, die innerhalb von 8-12 Jahren bei ausgeprägter Cholestase zur makronodulären Zirrhose und zum Tode führte. Bei der zweiten Form wurde ein Übergang zum histologischen Bild der CAH mit Peacemealnekrosen und Leberparenchymschaden beobachtet.

Auch Thomas (36) unterschied zwei Formen nach histologischen Kriterien: fokale Granulome deuteten auf eine gute Prognose, diffuse intrahepatische Gallengangsdestruktion, oft vergesellschaftet mit der Destruktion anderer Drüsen und Sklerodermie, zeigten einen progredienten Krankheitsverlauf an.

Shapiro et al. (34) sahen im Serumbilirubin einen prognostischen Marker für die PBC. Sie zeigten, daß Cholestasezeichen, die bereits im Stadium I auftreten, einen ungünstigen Krankheitsverlauf ankündigen.

Von Berg et al. (3, 5, 7) wurde eine eindeutige serologische Unterscheidung von zwei Formen der CNDC getroffen:
Die "klassische" PBC verläuft benigne, histologisch sind die Läsionen hauptsächlich auf die kleinen und mittleren Gallengänge beschränkt. In der IFL sind AMA typisch, ANA und SMA dagegen selten. In der Komplementbindungsreaktion (KBR) lässt sich nur ein komplementbindender Ak, anti-M2 nachweisen. Durch den Nachweis des zweiten komplementbindenden Ak, anti-M4, ist die zweite Form der CNDC gekennzeichnet: die Mischform (MF). Hier ist der Krankheitsverlauf schneller, auch das Leberparenchym ist geschädigt im Sinne der CAH, ANA und SMA sind häufig.

Bei den Untersuchungen zur Reinigung des M4 zeigte sich, daß ein Teil der anti-M2 positiven PBC-Seren sowie alle anti-M4 positiven Seren mit einem weiteren Ag in der KBR reagierte, das im Gegensatz zu M4 trypsinsentiv war.

Auf die Häufigkeit und Bedeutung dieses weiteren Ak, anti-M8, der bisher nur bei Patienten mit CNDC anchgewiesen wurde, soll im Folgenden eingegangen werden.

METHODE

GEWINNUNG EINES ZELLEXTRAKTES AUS SCHWEINENIEREN

Modifziert nach McFarlane (27).

Nieren eines frischgeschlachteten Schweines wurden aus der Kapsel gelöst und sofort in eisgekühlte o.25 M Saccharose-Lösung gelegt. Die folgende Präparation fand bei +4° C im Kühlraum statt.

Von der Schweineniere wurden Bindegewebe, Nierenbecken und -mark entfernt, die Nierenrinde in 1 cm^3 große Würfel geschnitten und ungefähr drei Stunden in der Saccharose-Lösung gewaschen, bis der Überstand klar war, indem man alle 3o min das Medium wechselte. Nach dem Waschvorgang wurde das Nierengewebe zu 50% w/v in Saccharose-Lösung gegeben und zerkleinert, zuerst 3o sec lang in einem Mixer Typ Warren comercial blender, durch Vorschalten eines 110 V Transformators verlangsamt, auf der niedrigsten Stufe. Anschließend zweimal in einem Potter Homogenisator der Firma Braun Melsungen bei 250 U/min.

Der Homogenisierungsvorgang musste sehr vorsichtig erfolgen, da sonst die Zellorganellen zu sehr beschädigt wurden.
Das gewonnene Homogenisat wurde eine Stunde bei 108 000 g zentrifugiert (Beckman TGA-50 Ultrazentrifuge, Beckman Rotor 45 Ti). Dabei bildeten sich aus dem Homogenisat drei Schichten: oben eine weiße Lipidschicht, die mit der Wasserstrahlpumpe und einer Pasteurpipette abgesaugt und verworfen wurde. Darunter kam der dunkelrote Überstand. Dieser wurde vorsichtig mit Pasteurpipette und Piläusbällchen abgenommen und zu 20 ml Portionen in Falcon-Tubes bis zum weiteren Verbrauch bei -7o° C eingefroren. Das grau-braune Pellet aus Zelldetritus wurde verworfen.

REINIGUNG VON M8 AUS DEM ZELLEXTRAKT

SÄULENCHROMATOGRAPHIE:

Eine 20 ml Portion des Zellextraktes wurde aufgetaut, bis sie +4° C erreicht hatte. Die weitere Präparation fand ohne Unterbrechung bei +4° C statt. Der Zellextrakt wurde mit 20 000 U/min 30 min in der Beckman Zentrifuge J-21C mit dem Rotor JA-20 zentrifugiert, der Überstand dekantiert und auf eine Sephadex G-100 Säule (K50/100 Pharmazia) aufgetragen. Bei der Durchlaufgeschwindigkeit von 1 Tropfen/4 sec wurden die Fraktionen zu 100 Tropfen (ca. 6,5 ml) gesammelt. Ab Fraktion 80 erschien das Vorlaufvolumen mit einem Mol.-Gewicht von >150 000. (s. Abb. 1).

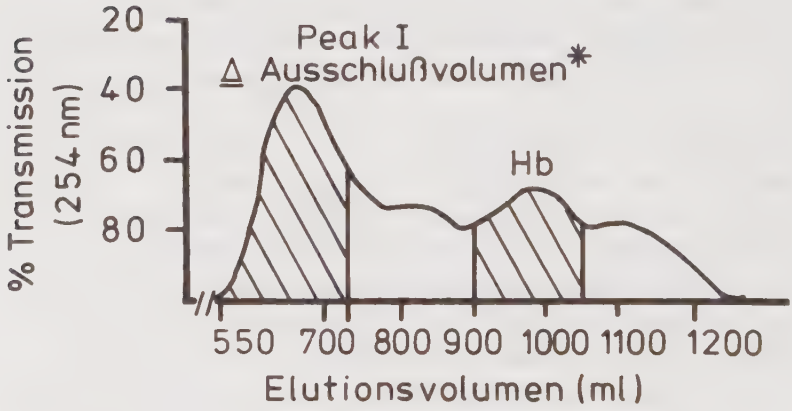


Abb.1 Präparation von M8
Sephadex G-100 Chromatographie des 105 000 g-Überstandes aus homogenisierter Schweineniere
* enthält alle mitochondrialen Antigene (M_1-M_6) und M_8

Dieses wurde gesammelt und in einer Druckkammer mit 4 atü auf einer Ultrafiltrationsmembran BM 500 (Berghof Tübingen) mit einem molekularen Ausschlußvolumen von 50 000 von 160 ml auf 20 ml eingeengt.

Für die Säulenchromatographie wurde ein Puffer aus 0,1 M Tris (p.a. Merck), 0,2 M NaCL (p.a. Merck), 1 mM EDTA (Titriplex III p.a. Merck) und 200 µg Na-Acid (p.a. Merck) ad 1l Aqua bidest., mit 32% HCL auf pH 8,0 eingestellt, verwendet.

Die Proteinlösung des ersten Peaks des Sephadex G-100 Laufs wurde auf einer Sepharose 6B Säule (K26/100 Pharmazia) erneut fraktioniert. Puffer, Tropfgeschwindigkeit und Fraktionsvolumen blieben gleich. Das Profil wies drei Gipfel auf: I, II, III, wobei der dritte in zwei Teile unterteilt werden mußte, da sein erster Teil, wie in einer KBR mit Marker-Seren gezeigt werden konnte, häufig mit PBC-spezifischem Antigen (M2) kontaminiert war (s. Abb. 2)

Der zweite Teil des dritten Peaks wurde wie oben beschrieben eingeengt auf 5 ml. Eine KBR mit Marker-Seren, zu der die Proteinlösung mit einem Teil Aqua bidest und zwei Teilen KBR-Puffer verdünnt wurde, entschied über seine Brauchbarkeit und seinen Ag-Gehalt. Bei fehlender Reaktion mit Seren, die nur anti-M2 aufwiesen, konnte diese Proteinlösung zur weiteren Isolierung durch Gradienten-Zentrifugation verwendet werden.

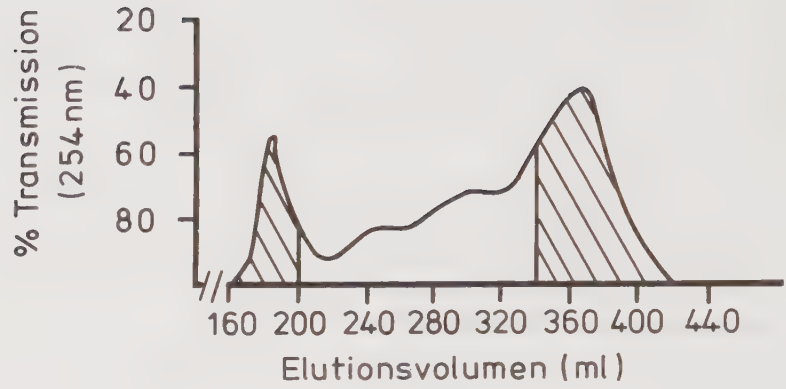


Abb. 2 Präparation vom M8
Sepharose 6B-Chromatographie des Peak I aus dem Sephadex G-100 Lauf

GRADIENTEN-ZENTRIFUGATION

Aus Saccharose (für mikrobiologische und biochemische Zwecke, Merck) und einem Puffer aus 10 mM Tris (p.a. Merck), 1 mM EDTA (Titriplex III, p.a. Merck) und 0,02% Na-Acid (p.a. Merck) auf 1l Aqua bidest. wurden Gradienten der Dichten 1.28 (59% Saccharose), 1.24 (52%), 1.19 (43%), 1.16 (37%), 1.14 (33%), 1.12 (29%), 1.10 (24%), 1.08 (2o%), 1.04 (10%) hergestellt und je ein Milliliter mit abnehmender Dichte in Polyallomerröhrchen für den SW-40 Rotor (Beckmann) geschichtet bei +4° C Umgebungstemperatur. Obenauf wurden 2,5 ml der konzentrierten Proteinlösung aus dem zweiten Teil des dritten Peaks des Sepharose 6B-Laufs gegeben (Proteinkonzentration 2,4 mg/ml). Die Gradienten wurden 24 Stunden bei 200 000 g und +4° C zentrifugiert (Beckmann TGA-50 Ultrazentrifuge, SW-40 Rotor Beckmann, 39 000 rpm.). Das Proteingemisch trennte sich auf, die Proteine stellten sich bei den ihnen entsprechenden Dichten ein.
Die Gradienten wurden mit einer Pasteurpipette und Piläusbällchen einzeln abgenommen und getrennt in Amylase-Röhrchen abgefüllt. Bei -2o° C eingefroren blieben sie über Wochen hinweg aktiv, häufiges Auftauen und Einfrieren verminderte jedoch ihre Aktivität. Eine erneute KBR mit Marker-Seren zeigte Aktivität einzelner Seren von Patienten mit AMA-positiver Lebererkrankung bei den Gradienten 1.12 und 1.19, d.h. M8 stellte sich bei 1.12 bzw. 1.19 ein.

KOMPLEMENTBINDUNGSREAKTION (KBR)

Vorbereitung: KBR-Puffer: 10 Tabletten der Complement fixation Test Diluent Tablets (Oxoid BR16), pH 7,2 und 100 mg Bovine Serum Albumine wurden in 1l Aqua bidest gelöst.

Komplement: 2 ml Dried Complement Preserved Guineapig Serum (Welcome Reagents) wurde mit 2 ml Aqua bidest. aufgelöst. 1 ml dieser Lösung wurde nach I.M. Roitt und Doniach (30) eingestellt. (Bei unserer Charge mit 7 ml Aqua bidest und 32 ml KBR-Puffer).

Erythrozyten-Suspension: 8 ml Hammelblut (Behring ORAW 3o/31) wurden zweimal in ca. 40 ml isotoner NaCL-Lösung bei 1700 rpm (MSE Zentrifuge) 10 min gewaschen. Anschließend wurde der Bodensatz in 24 ml KBR-Puffer suspendiert und 1 ml dieser Suspension in 24 ml 0,4% NH_3-Lösung bei = 541 nm im Photometer gegen Aqua gemessen.

Extinktion: $E_{0,5}$ = 100% iger Ery-Suspension

$E_{gemessen}$ = x% iger Ery-Suspension

$$y = \frac{(x-100)\ \text{vorhandende Menge Ery-Suspension}}{100}$$

y ml KBR-Puffer zu der Ery-Suspension zugegeben, ergab eine 6%ige Lösung, die nochmals 1:1 mit KBR-Puffer auf eine 3%ige Lösung verdünnt wurde. Antisheep Hämolysin wurde in einer Konzentration von 0,5 µl/ml zugesetzt und die Lösung 30 min bei 37° C im Wasserbad inkubiert. Sie war bei +4° C ca. drei Tage haltbar.

Antigenlösung: Für maximale Titer bei minimalem Ag-Verbrauch erwies sich eine Proteinkonzentration von 0,25 mg/ml für den Gradienten 1.12 und 0.15 mg/ml für den Gradienten 1,19, die M8 enthielten, als optimal. Diese Konzentration wurde mit KBR-Puffer eingestellt, nachdem der Proteingehalt der Gradienten durch eine Proteinbestimmung nach Lowry (25) festgestellt wurde.

Seren: Die bei -20° C tiefgefrorenen Seren wurden bei Zimmertemperatur aufgetaut und in Eppendorf-Reaktionsgefäßen mit KBR-Puffer 1:32 vorverdünnt.

KBR: In Mikrotiterplatten mit U-förmigem Boden wurden mit geeichten Tropfern 25 µl KBR-Puffer vorgelegt, um mit geeichten Dilutern (25 µl) die Seren von 1:64 bis 1:8000 zu verdünnen. 25 µl Antigenlösung und 25 µl Komplement wurden zugegeben. Nach einer Stunde Inkubation bei 37° C wurden 25 µl 3%ige Schafserythrozytensuspension zugegeben, und nach 5 sec Schütteln auf einem Microshaker AB 69 Cooke wieder 3o min bei 37° C inkubiert. Dann wurden die Platten erneut geschüttelt und bei 4° C aufbewahrt. Nach 3 Stunden war die Reaktion ablesbar. Vollständige, scharfberandete Knopfbildung durch das Absinken der intakten Erythrozyten auf den U-förmigen Boden der Microwells wurde als Viererfixation (z.B. 124^{4}) geringe Hämolyse um eine deutliche Knopfbildung als Dreierfixation (z.B. $128^{3,4}$) gewertet. Eine komplementbindende Ag-Ak-Reaktion wurde erst bei einer eindeutigen Viererfixation bei einer Serumverdünnung von 1:64 angenommen (64^{4}). Bei schwächeren Serumverdünnungen waren unspezifische Reaktionen zu häufig und daher eine Interpretation nicht zulässig.

Für jedes Serum wurde stets eine Serumkontrolle durchgeführt. Dazu wurden Serum, Komplement und Schafserythrozyten wie oben beschrieben in einem Microwell gemischt ohne Antigenlösung. Kam es bei dieser Serumkontrolle bereits zu einer Knopfbildung der Erythrozyten, wurde das entsprechende Serum als anticomplementär verworfen, da eine Ag-Ak bedingte Komplementbindung hier nicht mehr nachweisbar.

Ferner wurde bei jedem Versuch die Hämolysefähigkeit des Komplements getestet, indem Complement 1:1, 1:2 und 1:4 verdünnt wurde und nur Erythrozyten zugegeben wurden.

Unverdünnt mußte eine vollständige Hämolyse erfolgen, bei den Verdünnungen 1:2 und 1:4 jeweils die Hälfte oder ein Viertel der Erythrozyten hämolysiert sein (optische Kontrolle).

AUSWERTUNG

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach dem Student-T-Test, wobei das 5%-Niveau mit p 0,05 als signifikant akzeptiert wurde.

PATIENTEN

Getestet wurden Seren von insgesamt 247 Patienten. Diese Patienten wurden in fünf Gruppen eingeteilt.
In den Gruppen I bis III befanden sich Patienten mit einer PBC, bei denen die Diagnose nach unterschiedlichen Kriterien gestellt wurde.

Zur Gruppe I gehörten 66 Patienten, bei denen die Diagnose aufgrund von klinisch-histologischen Verlaufsbeobachtungen gestellt wurde (Prof. G. Klöppel, Pathologisches Institut der Universität Hamburg). Alle Patienten waren in der IFL und im Fluometric Immunoassay (FIAX) (15) AMA positiv, in der KBR, im FIAX (19) und im Enzyme Linked Immunoabsorgentassay (ELISA) zeigtein sie anti-M2, den PBC-spezifischen Ak. Bei dieser Gruppe konnte die Diagnose der PBC eindeutig gestellt werden, da sie durch histologische, klinische und serologische Befunde gestützt wurde.

Gruppe II umfaßte 106 Patienten, bei denen klinische und serologische Parameter die Diagnose PBC zuließen. Alle Patienten besaßen AMA und anti-M2, wodurch die Diagnose trotz fehlender Histologie als gesichert betrachtet werden konnte.

In der Gruppe III waren 23 Patienten, bei denen klinisch und histologisch alle Kriterien der PBC bestanden. AMA waren in der IFL positiv, jedoch konnten weder in der KBR noch im FIAX oder ELISA anti-M2 nachgewiesen werden.

28 Patienten der Gruppe IV hatten eine Mischform (MF). Histologisch waren verstärkt chronisch-aktive Prozesse mit Piecemealnekrosen nachweisbar, serologisch fanden sich in KBR, FIAX und ELISA anti-M2 und in der KBR anti-M4, der MF-spezifische Ak.

In die Testung mit einbezogen wurden 47 Patienten der Gruppe V mit anderen hepatischen und nicht-hepatischen Erkrankungen. Von ihnen hatten 30 Patienten eine histologisch gesicherte CAH. In der IFL zeigten sie Ak gegen Kerne (ANA) und glatte Muskulatur (SMA), in der KBR reagierten sie mit Mikrosomenfraktionen aus Leber und Niere (LKM).

Neun Patienten mit systemischem Lupus erythematodes disseminatus (SLE) waren in der IFL ANA positiv und im FIAX reagierten sie mit DNA.
Bei acht Patienten mit einer alkoholtoxischen Leberzirrhose, die durch Anamnese, Sonographie und klinisch-chemische Parameter gesichert wurde, waren in IFL, FIAX oder KBR keine Auto-Ak nachweisbar.
Geschlechts- und Altersverteilung der Patienten in den fünf Gruppen kann Tabelle 1 entnommen werden.

ALTERS- UND GESCHLECHTSVERTEILUNG DER PATIENTEN Tabelle (1)

Gruppe	Erkrankung	Diagnose	Patienten N	Männer	%	Frauen	%	Alter	Range
I	PBC	histologisch, klinische Verlaufsstudie	66					52.3±11.5	33-72
				6	9			62.6± 2.3	56-65
						60	91	52.6± 9.6	33-72
II	PBC	klinisch, biochemisch, immunologisch	106					54.4±11.3	25-80
				12	11,3			57.5± 9	46-80
						94	88,7	54 ±11.5	25-80
III	PBC	klinisch, histologisch, anti-M2 Ø	23					54 ±12.9	20-78
				2	8.7			63 ±17	51-75
						21	91.3	53 ±12.6	20-78
IV	Mischform	histologisch, klinisch, immunologisch	28					58.6±11	38-80
				3	10.7			63.3± 8	54-69
						25	89.3	58.7±11.2	38-80
V	CAH	histologisch, klinisch, immunologisch	30					54.6±15.7	16-76
				11	36.7			55.8±15.8	25-76
						19	63.3	53.8±15.6	16-76
	Lupus erythematodes diss.	klinisch, immunologisch	9	0		9	100	37.7±15	22-65
	Alkoholtoxische Lebererkrankung	Anamnese, Sonographie, biochemisch	8					56.5±11	34-72
				6	75			52.5± 9.8	34-65
						2	25	68.5± 3.5	65-72

ERGEBNISSE

Bei der Untersuchung der Seren von 247 Patienten fand sich anti-M8 in der Gruppe I, der klinisch, histologisch und serologisch definierte PBC-Patienten angehörten, bei 29 von 66 Patienten (43,9%).

In der Gruppe II mit klinisch und serologisch definierten PBC-Patienten ohne Histologie waren 42 von 106 Patienten anti-M8 positiv (39,6%).

Von den Patienten der Gruppe III, die klinisch und histologisch alle Kriterien der PBC aufwiesen, aber AMA nur in der IFL zeigten und anti-M2 negativ waren, besaßen nur 6 von 23 (26%) anti-M8.

Die Patienten der MF-Gruppe IV mit positivem anti-M2/anti-M4-Befund waren zu 96% (27 von 28) anti-M8 positiv.

Die Seren der Patientengruppe V mit CAH, SLE und alkohol-toxischer Leberzirrhose waren alle anti-M8 negativ (s. Tabelle 2 und Abb. 3).

Gruppe	N	M8 positiv	davon Männer %	Frauen %	M8 negativ %	davon Männer %	Frauen %
I	66	43,9	10,3	89,7	56,1	8,1	91,9
II	106	39,6	19,0	81,0	60,4	6,2	93,8
III	23	26,0	0	100,0	74,0	11,8	88,2
IV	28	96,1	11,0	89,0	3,9	0	100.0
V	30	0	0	0	100.0	36,7	63,3
VI	9	0	0	0	100.0	0	100.0
VII	8	0	0	0	100,0	75,0	25,0

Tab. 2 Ergebnisse

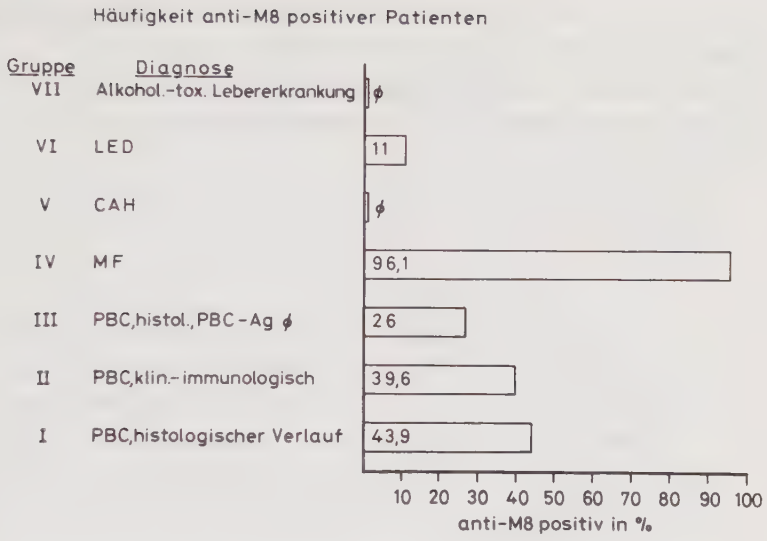


Abb. 3 Anteil der anti-M8-positiven Patienten in den einzelnen Gruppen

In der Alters- und Geschlechtsverteilung unterschieden sich anti-M8 positive und negative Patienten nicht (s. Tab. 3).

Patienten	N	%	Alter ± Standard-abweichung	Range
Insgesamt	58	100	53,62 ± 9,44	33-72
M8 positiv	18	31,03	55,79 ± 7,88	37-69
M8 negativ	40	68,96	52,55 ± 9,82	33-72

Tab. 3 Altersverteilung der anti-M8 Positiven und der anti-M8 negativen Patienten der Gruppe I

Bei den anti-M8 positiven Seren wurden Titer von 1:64 bis 1:8000 gefunden, wobei Titer >1:2000 am häufigsten in der Gruppe IV auftraten. Anti-M8-Titer in der Gruppe III lagen fast alle nur bei 1:128, ein Serum reagierte noch bei einer Verdünnung von 1:256 (s. Abb. 4).

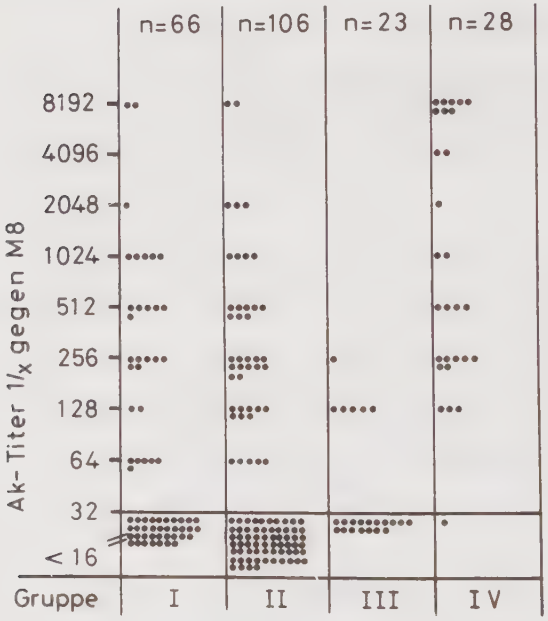


Abb. 4 Häufigkeit und Titerhöhe von anti-M8 bei Patienten mit primär-biliärer Zirrhose und Mischform.

Bei dem Versuch, Unterscheidungsmerkmale der anti-M8 positiven gegenüber den negativen Patienten zu finden, wurden Immunglobuline, Serumbilirubin, GOT, GPT und alkalische Phosphatase verglichen. Auch die Dauer und Progredienz der einzelnen Krankheitsverläufe wurde untersucht.

Immunglobuline

Die Immunglobulinkonzentration in den Seren wurde mit dem FIAX bestimmt. Als Normbereich gelten für IgG 855-1800 mg/dl, für IgM 82-245 mg/dl und für IgA 75-295 mg/dl.
Die Immunglobulinkonzentration konnte nicht bei allen Seren ermittelt werden, da ein Teil der Seren im Laufe der Zeit verbraucht war.

In der Gruppe I wurde die Serumkonzentration von IgG bei 59 Patienten bestimmt, von denen 19 anti-M8 positiv waren. IgG war bei den anti-M8 negativen Patienten mit 1604 $\pm$ 703 mg/dl (Streubreite 500-4400) gegenüber 1509 $\pm$ 550 mg/dl (Streubreite 373-2371) bei den positiven leicht, jedoch nicht signifikant ($p > 0,05$) erhöht. Beide Durchschnittswerte lagen im oberen Normbereich.

IgM wurde bei 61 Patienten bestimmt. Bei den 41 anti-M8 negativen Patienten war IgM mit 516 $\pm$ 552 mg/dl (Streubreite 43-3700) gegenüber den 20 positiven mit 452 $\pm$ 220 mg/dl (Streubreite 174-966) geringgradig erhöht (statistisch nicht signifikant).
Da erhöhte IgM-Werte zum Krankheitsbild der PBC gehören, war es nicht erstaunlich, daß beide Durchschnittswerte deutlich über dem Normbereich lagen.

Auch in Bezug auf IgA wiesen 23 anti-M8 negativen Patienten höhere Werte auf, als 12 anti-M8 positiven:
353 $\pm$ 126 mg/dl (Streubreite 85-534), gegenüber 306 $\pm$ 123 mg/dl (Streubreite 114-449). Die Erhöhung zeigte jedoch auch hier keinen signifikanten Unterschied, beide Werte lagen leicht über dem Normbereich. (s. Abb. 5).

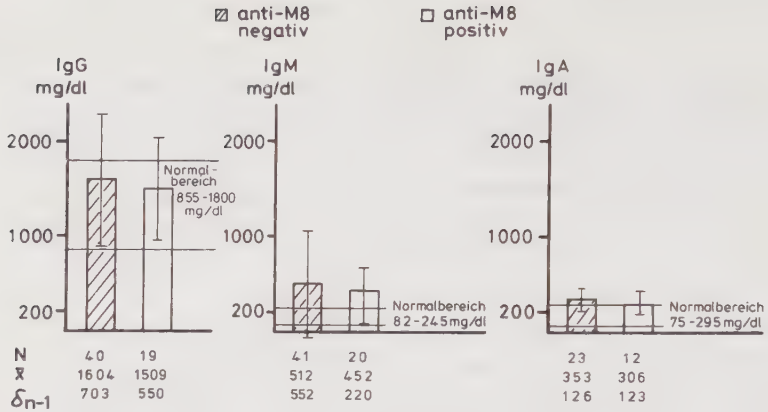


Abb. 5: Immunglobulinkonzentrationen der Seren der Gruppe I.

Gruppe II: Die Bestimmung der Immunglobulinkonzentration führte bei 42 Patienten dieser Gruppe (20 anti-M8 positive) zu gegensätzlichen Ergebnissen gegenüber der Gruppe I. Hier fanden sich bei den anti-M8 positiven höhere Immunglobulinspiegel.
Für IgM waren sie mit 423 ± 109 mg/dl (Streubreite 119-1000) gegenüber 368 ± 109 mg/dl (Streubreite 143-626) leicht erhöht (statistisch nicht signifikant).

Eine statistisch signifikante Erhöhung ergab sich bei den IgG-Werten: 1600 ± 719 mg/dl (Streubreite 849-4000) bei den positiven und 1235 ± 505 mg/dl (Streubreite 657-2835) bei den negativen. IgA wurde in dieser Gruppe nicht bestimmt.

In keiner Gruppe konnte eine Relation zwischen Titerhöhe von anti-M8 und IgM- oder IgG-Spiegel gefunden werden. (s. Abb. 6).

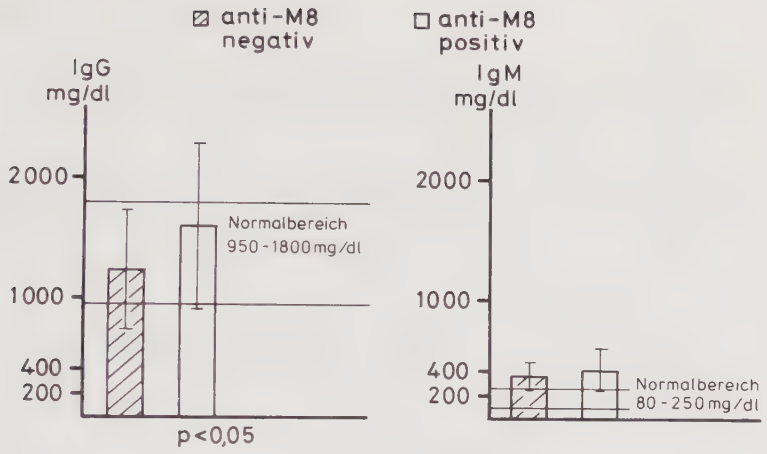


Abb. 6 Immunglobulinkonzentrationen in den Seren der Gruppe II.

VERGLEICH KLINISCH-BIOCHEMISCHER PARAMETER

Herangezogen wurden die Werte der Gruppe I, die im DRK-Krankenhaus in Hamburg bestimmt wurden zur Zeit der Entnahme unserer Seren.

Serumbilirubin:

Bei den 15 anti-M8 positiven Patienten war das Serumbilirubin mit 3,97 $\pm$ 4,5 mg/dl (Streubreite 0,4-14,2) durchschnittlich höher als bei den 36 anti-M8 negativen mit 2,88 $\pm$ 4,87 mg/dl (Streubreite 0,3-25,3). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant. (Abb. 7).

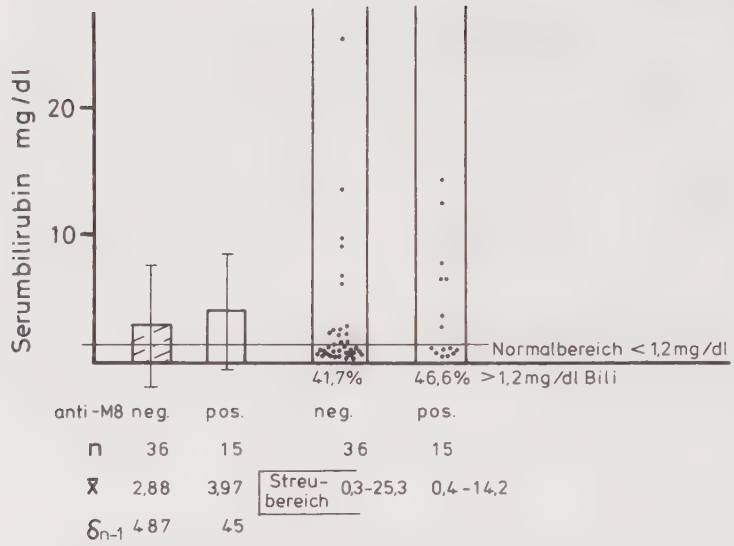


Abb. 7 Serumbilirubinwerte der Seren der Gruppe I

GOT:

Die GOT war in beiden Gruppen mäßig erhöht: anti-M8 positive 36,6 ± 33,6 U/dl (Streubreite 14-148), anti-M8 negative 39,3 ± 15.2 U/dl (Streubreite 15-64). In beiden Gruppen lagen die meisten Patienten über dem Normalwert von 15. (s.Abb. 8).

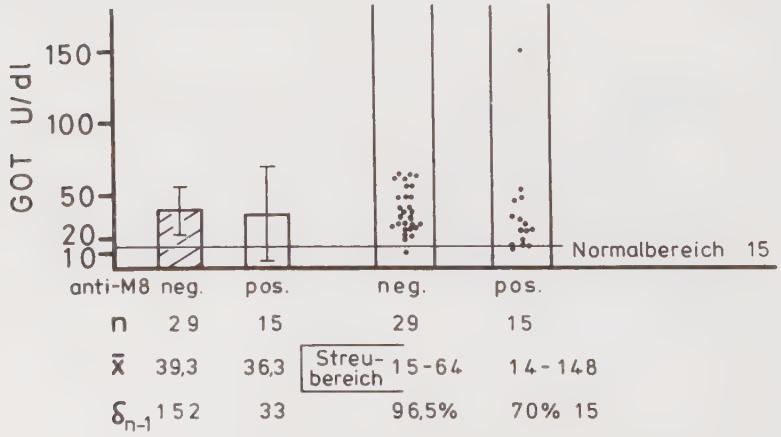


Abb. 8 GOT-Werte der Seren der Gruppe I

GPT:

Auch die GPT war in beiden Gruppen mäßig erhöht, bei den anti-M8 negativen stärker 42,9 ± 21,9 U/dl (Streubreite 12-103) als bei den positiven 28,2 ± 14,8 (Streubreite 11-60).
Mit $p < 0.05$ ist dieser Unterschied statistisch signifikant. (s.Abb. 9).

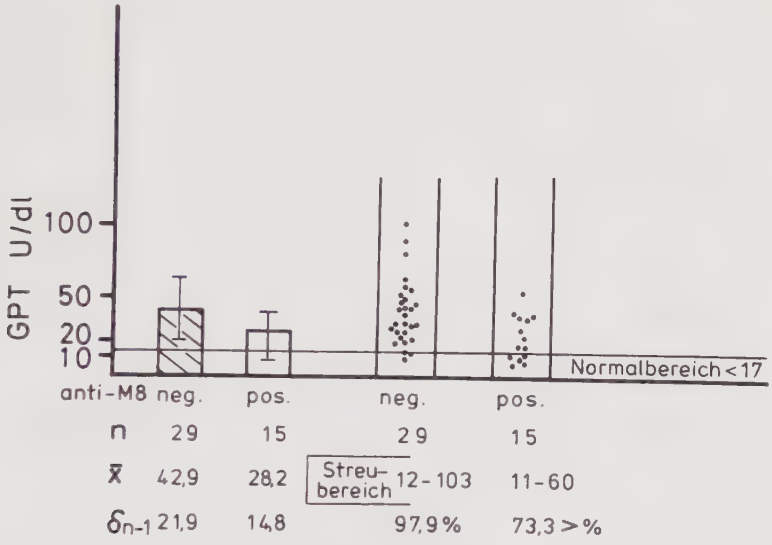


Abb. 9 GPT-Werte der Seren der Gruppe I

Alkalische Phosphatase:

Die Erhöhung der AP gehört ebenfalls zum Krankheitsbild der PBC, daher überraschen Werte von 658 ± 433 U/dl (Streubreite 125-2316) bei 36 anti-M8 negativen und 645 ± 679 U/dl (Streubreite 110-2432) bei 17 anti-M8 positiven Patienten nicht. (Kein signifikanter Unterschied. (s. Abb. 10).

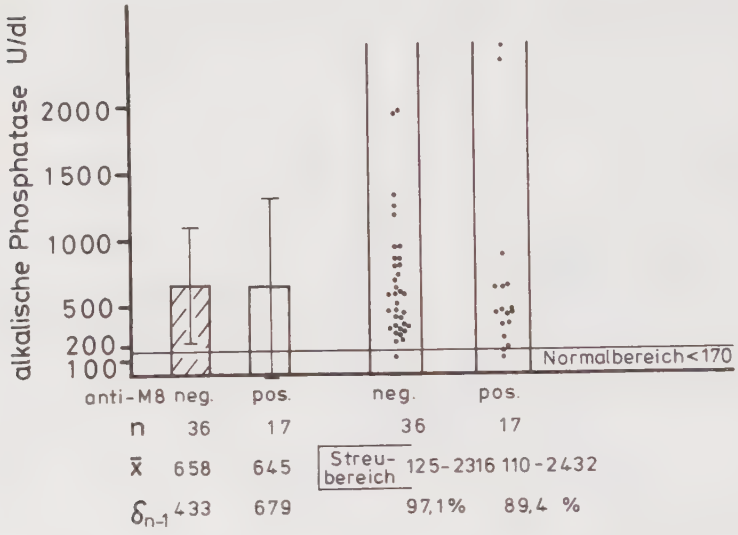


Abb. 1o Alkalische Phosphatase-Werte der Seren der Gruppe I

Y-GT-Werte des von uns untersuchten Kollektivs konnten leider keine ermittelt werden.

HÄUFIGKEIT DER AK GEGEN KERNE (ANA) UND GLATTE MUSKULATUR (SMA)

Mittels der Immunfluoreszentmethode (IFL) wurden die Seren der Gruppe I auf ANA und SMA untersucht.
ANA waren bei 16% der anti-M8 negativen und bei 14% der anti-M8 positiven zu finden.
SMA waren bei den anti-M8 positiven signifikant ($p < 0,05$) häufiger (54%) als bei den anti-M8 negativen (37%). Das Auftreten eines oder mehrerer zusätzlich Auto-Ak neben AMA war bei anti-M8 positiven mit 61% deutlich häufiger als bei anti-M8 negativen (39%) ($p \; 0,05$). (s.Tab. 4).

Gruppe		N	AMA	ANA	SMA	SMA AMA+ANA
I PBC	M8 negativ	37	100 %	16 %	37 %	39 %
	M8 positiv	29	100 %	14 %	54 %	61 %
IV MF		28	100 %	37 %	75 %	

Tab. 4 Auftreten von Ak gegen Zellorganellen

KRANKHEITSSTADIEN

Ein eindeutiger Bezug des Auftretens von anti-M8 zu bestimmten Krankheitsstadien konnte bei 58 Patienten der Gruppe I nicht festgestellt werden. Anti-M8 trat in frühen wie in späten Stadien auf.

Jedochhat man den Eindruck, daß sich anti-M8 positive Patienten häufiger in fortgeschrittenen Stadien befanden, wo hingegen anti-M8 negative Patienten überwiegend in den Frühstadien I und II waren. (s. Abb. 11).

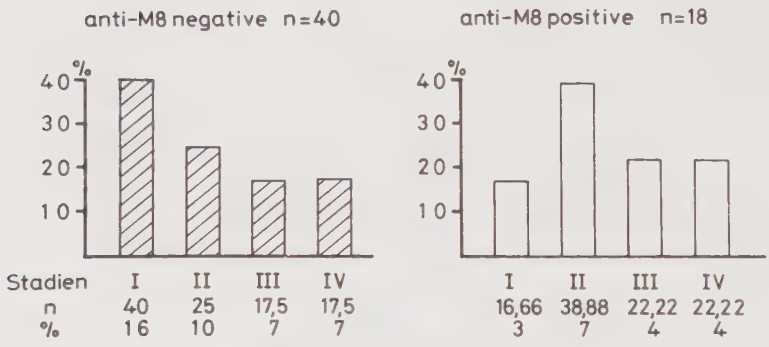
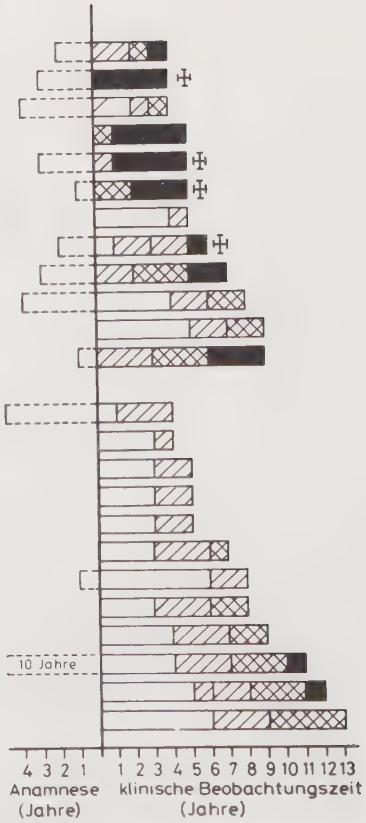


Abb. 11 Verteilung der anti-M8 negativen und der anti-M8 positiven Patienten der Gruppe I innerhalb der vier Krankheitsstadien

KRANKHEITSVERLAUF

Bei der retrospektiven Analyse der Krankheitsverläufe von 24 PBC-Patienten der Gruppe I, von denen 12 einen positiven und 12 einen negativen anti-M8-Befund zeigten, stellte sich heraus, daß von den anti-M8 negativen Patienten in dem beobachteten Zeitraum von bis zu 13 Jahren noch keiner verstorben war und nur zwei Patienten nach 9 bzw. 1o Jahren das Stadium IV erreicht hatten.
Dagegen waren von den 12 anti-M8 positiven Patienten bereits 4 im Stadium IV verstorben, 4 befanden sich im Stadium IV. Wie aus Abb. 12 hervorgeht, scheinen die Patienten mit positivem anti-M8-Befund kürzere Frühstadien (Stadium I und II) zu haben, als die ohne Nachweis von anti-M8, von denen sich die meisten nach 6 Jahren Beobachtungsdauer noch im Stadium I oder II befanden. (s. Abb. 12)

Nr.	Name	Geschl.	Alter bei Diagn.	anti M8-Titer 1 X
1	E.W.	w	34	256
2	L.R.	w	59	256
3	I.K.	w	58	8192
4	I.G.	w	55	512
5	A.C.	w	47	512
6	M.P.	w	46	1024
7	H.W.	w	64	64
8	J.M.	w	57	1024
9	L.G.	w	51	128
10	V.B.	w	50	641
11	O.I.	m	52	1024
12	M.N.	w	43	256
13	M.W.	w	47	⌀
14	H.D.	w	42	⌀
15	G.B.	w	64	⌀
16	M.B.	w	54	⌀
17	F.L.	m	63	⌀
18	A.A.	w	45	⌀
19	R.M.	w	42	⌀
20	M.H.	w	29	⌀
21	O R	w	51	⌀
22	M.S.	w	58	⌀
23	H.B.	w	45	⌀
24	R.P.	w	34	⌀



PBC ⬚ Anamnese ▭ Stadium I ▨ Stadium II ▩ Stadium III ▬ Stadium IV

Abb. 12: Klinisch-histologischer Verlauf von 12 anti-M8 positiven und 12 anti-M8 negativen Patienten.

DISKUSSION

1.) NATUR VON M8

Bei M8 handelt es sich um ein noch nicht definiertes lösliches Protein mit einem Molekulargewicht über 150 000. Es ist noch nicht geklärt, ob es sich um ein aggregiertes Protein handelt. Dafür spricht, daß M8 sowohl im Gradienten 1.12 als auch in 1.19 vorkommt. Bei 1.19 ist auch eine geringere Protein-Konzentration für die äquivalente Ag-Wirkung ausreichend.

M8 konnte eindeutig von M2, dem PBC-spezifischen Ag, unterschieden werden, denn auch hochtitrige anti-M2 Seren waren teilweise anti-M8 negativ. Ferner ließen sich in einigen Seren der Gruppe III, die auch im FIAX (19) anti-M2 negativ waren, anti-M8 nachweisen.

Mit mikrosomalen oder Zellkernproteinen scheint M8 nicht assoziiert zu sein. Seren mit definierten Ak, wie z.B. die von Patienten mit LKM positiver CAH oder ANA positivem SLE, die Ak gegen verschiedene Kernbestandteile hatten, reagierten in der KBR nicht mit M8.

Da anti-M8 in der Regel in Seren zu finden ist, die Ak gegen diverse Mitochondrienbestandteile haben und M8 bisher nur aus Nieren isoliert werden konnte, deren Zellen sehr reich an Mitochondrien sind, war nicht auszuschließen, daß auch M8 ein mitochondriales Antigen ist. In der Zwischenzeit zeigte sich, daß sich M8 zusammen mit der äußeren Mitochondrienmembran isolieren lässt (5).

2.) KLINISCHE RELEVANZ VON ANTI-M8

Bei der Untersuchung von 247 Seren konnte anti-M8 nur bei einem Teil der Seren von Patienten mit PBC (39,49%) und bei fast allen MF-Seren (96%) nachgewiesen werden. Seren von Patienten mit anderen hepatischen und nicht hepatischen Erkrankungen waren anti-M8 negativ. Anti-M8 kann neben anti-M2 und anti-M4 als krankheitsspezifischer Auto-Ak der CNDC betrachtet werden. Es wurde versucht, Unterscheidungsmerkmale zu finden zwischen der anti-M8 positiven und der negativen Form der PBC.

Bezüglich Alters- und Geschlechtsverteilung unterschieden sich die beiden Formen nicht.

Wie bereits 1982 in Wiesbaden berichtet (38), konnte beim Vergleich klinisch-chemischer Parameter kein eindeutiger Unterschied gefunden werden. Betrachtete man die Durchschnittswerte der Gruppe I und II kritisch, so fand man widersprüchliche Ergebnisse bezüglich der Immunglobulinspiegel. Es ließ sich keine eindeutige Aussage machen. Die Streubreite aller Laborparameter war sehr groß. Bei beiden Formen waren im Durchschnitt Transaminasen, Bilirubin, IgM und IgA gleichermaßen erhöht, wie es bei der PBC zu erwarten ist.

Auffällig war das signifikant häufigere Auftreten von ANA und SMA bei der anti-M8 positiven Form, doch waren sie nicht so häufig wie bei der MF (s. Tab. 4)

Die Titerhöhe des anti-M8 schwankte während des Krankheitsverlaufes, zeitweise konnte der Befund sogar negativ werden. Eine Korrelation zwischen Titerhöhe und Immunglobulinspiegel konnte nicht nachgewiesen werden.

Bei der relativen Ungenauigkeit der KBR als quantitative Bestimmungsmethode ist es sicher nicht zulässig, von höheren anti-M8-Titern auf ein aktiveres Krankheitsgeschehen zu schliessen, bzw. am Sinken der Titer auf den Erfolg einer immunsuppressiven Therapie zu schließen.

Bei der Verlaufsbeobachtung von 24 PBC-Patienten fanden wir, daß bei anti-M8 positiven Patienten die Krankheit schneller voranschreitet. Vier dieser Patienten waren sogar im Beobachtungszeitraum verstorben, dagegen keiner der anti-M8 negativen.

Somit scheint erstmals ein echter prognostischer Marker für die PBC gefunden worden zu sein, der sich auch leicht bestimmen läßt. Mit seiner Hilfe läßt sich eine prognostische Aussage über den Krankheitsverlauf bereits in frühen Stadien machen, ohne daß der Patient durch invasive Methoden wie Laparoskopie oder Biopsie beeinträchtigt werden muß.

Mit dem Auftreten von anti-M8 erweitert sich die Palette mitochondrialer Ak als Zeichen einer verstärkten "immune Hyperresponsivness". Bei verminderter Zahl zirkulierender Lymphozyten besteht bei der PBC ein Suppressorzelldefekt, der eine polyclonale Steigerung der Immunglobulinsynthese vor allem von IgM, in späteren Stadien auch von IgG und IgA zulässt. In diesem Rahmen kommt es zu einer ungeregelten Bildung von Auto-Ak (16). Je schwerer diese Immunregulationsstörung ist, desto mehr Auto-Ak kann man erwarten.

Mit Hilfe von anti-M8 lässt sich eine Form der PBC unterscheiden, die bezüglich Krankheitsaktivität und Prognose zwischen der "klassischen" PBC mit anti-M2 und der MF mit anti-M2, anti-M8 und anti-M4 steht (s. Abb. 13).

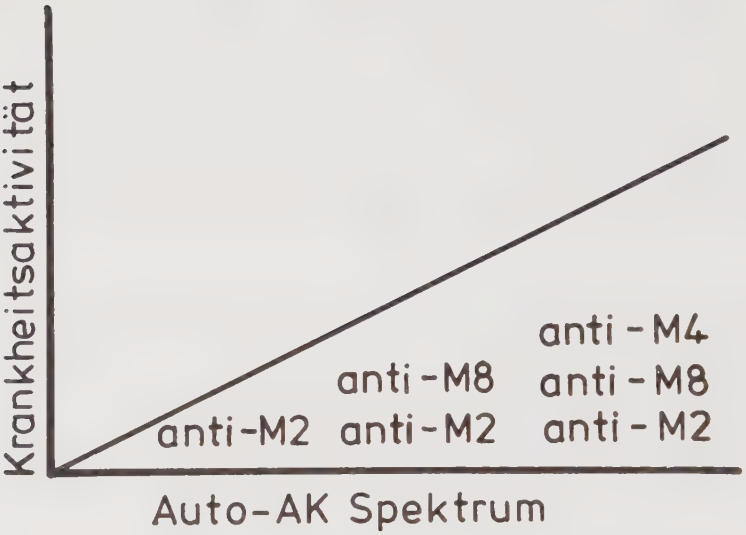


Abb. 13 Verhältnis von Krankheitsaktivität der PBC und Auto-Ak Spektrum

ADENDUM

Seit Abschluß der Arbeit konnte das Konzept, daß unterschiedliche AMA-Profile Rückschlüsse auf die Prognose der PBC zulassen, weiter erhärtet werden (37) (Hepatology submitted 1985).

LITERATURVERZEICHNIS

1) Baum H, Berg PA
The complex nature of mitochondrial antibodies and their relation to primary biliary cirrhosis
Sem in Liver Disease Vol 1 No 4, 309-332, 1981

2) Baum H, Davey JM, Elsden J
Evidence that adenosine triphosphatase is one of the mitochondrial antigens of autoimmune liver disease
Biochem Soc Trans 7: 213-214, 1979

3) Berg PA, Baum H
Serology of primary biliary cirrhosis
Springer Sem Immunopathol 3: 355-373, 1980

4) Berg PA, Traunecker U, Märker A
Mitochondriale Antikörper bei nicht-hepatischen Erkrankungen
Dtsch med Wschr 98: 1186-1188, 1973

5) Berg PA, Klein R, Lindenborn-Fotinos J
Antimitochondrial antibiodies in primary biliary cirrhosis
of Hepatology, 2: 123-131, 1986

6) Berg PA, Roitt IM, Doniach D, Horne RW
Mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis III: Characterisation of the inner membrane complement fixing antigen
Clin Exp Immunol 4: 511-525, 1969

7) Berg PA, Sayers T, Wiedmann KH, Klöppel G, Lindner H
Serological classification of chronic cholestatic liver diseases. The use of two different types of antimitochondrial antibodies
Lancet 2: 1329-1332, 1980

8) Berg PA, Weber P, Oehring J,
Significance of different types of mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis.
Hepatology: Festschrift for Hans Popper
(eds: Brunner H, Thaler H) Ravenpress, New York, 1985

9) Bullock WE
Leprosy: Model of immunological pertubation in chronic infection
J Infect Dis 137: 341-354, 1978

1o) Doniach D, Roitt IM, Walker JG, Sherlock S
Tissue antibodies in PBC, CAH, cryptogenic cirrhosis and other liver dieseases and their clinical implications
Clin Exp.Immunol 1: 237, 1966

11) Douglas JG, Finlayson ND
Are inreased individual susceptobility and environmental factors both necessary for the development of primary biliary cirrhosis?
British Med J 2: 419-420, 1979

12) Epstein O, Jain S, Lee RG,
D-Penicillamine improves survival in primary biliary cirrhosis
Lancet 2: 1275-1277, 1981

13) Geubel AP, Baggenstoss AH, Summerskill WHJ
Responses to treatment can differentiate chronic active liver disease with cholangitic features from the primary biliary cirrhosis syndrome
Gastroenterology 71: 444-449, 1976

14) Golding PL, Smith M, Williams R
Multisysteminvolvement in chronic liver disease
Am J Med 55: 772-782, 1973

15) Hitchings MM
"Custom" FIAX Assay Manual
Edited by DRA Harte

16) James O, Macklon AG, Watson AJ
Primary biliary cirrhosis - a revised clinical spectrum
Lancet 1: 1278-1280, 1981

17) James SP, Vierling JM, Strober W
The role of the immuneresponse in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis
Sem in Liver Disease Vol 1 No 4 322-337, 1981

18) Johnson GD, Holborow EJ, Glynn LE
Antibody to smooth muscle in patients with liver disease
Lancet 2: 787-879, 1965

19) Klein R, Lindenborn-Fotinos J, Berg PA
Use of ATPase associated antigen (M2) for detection of antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis by fluometric immunoassay
J. Immunol. Meth. 64: 227-238, 1983

20) Klöppel G, Kirchhof M, Berg PA
Natural course ob PBC. I. A morphological, clinical and serological analysis of 103 cases
Liver 2: 141-151, 1982

21) Klöppel G, Dammermann R, Lindner H, Berg PA
Zur Pathohistologie von Mischformen der chronisch aggressiven Hepatitis und der primär biliären Zirrhose
Verh Dtsch Ges Path 60: 483, 1976

22) Klöppel G, Seifert G, Lindner H, Dammermann R, Sack HJ Berg PA
Histopathological features in mixed types of chronic aggresive Hepatitis and primary biliary cirrhosis
Virchows Arch Pathol Anat and Histol 373: 143-160, 1977

23) Lee RG, Epstein O, Jauregin H et al.
Granulomas in primary biliary cirrhosis: a prognostic feature
Gastroenterology 81: 983-986, 1981

24) Lindenborn-Fotinos J, Baum H, Berg PA
Mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis, Part 7 (Species- and nonspecies-specific determinants of M2 antigen)
Hepatology 5: 763-769, 1985

25) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ
Protein measurement with the Folin phenol reagent
J Biol Chem 193: 269, 1951

26) Lüders CJ, Kruck P, Henning H, Look D
Histologische und klinische Untersuchungen zur Differentialdiagnose der aggressiven chronischen Hepatitis und der primären biliären Leberzirrhose
Z Gastroenterol 12: 467-484, 1974

27) Mc Farlane IG, Wojcicka BW, Zucker GM, Eddlestone ALWF, Williams R
Purifikation and characterisation of human liver-specific membrane lipoprotein (LSP)
Clin Exp. Immunol 27: 381, 1977

28) Munoz LE, Thomas HC, Scheuer PJ, Doniach D, Sherlock S
Is mitochondrial antibody diagnostic of primary biliary cirrhosis?
Gut 22: 136-140, 1981

29) Popper H
The problem of histologic evaluation of primary biliary cirrhosis
Virchows Arch Pathol und Histol 379: 99-102, 1978

30) Roitt IM, Doniach D
WHO Manual of autoimmune serology
WHO, Geneva, 1969

31) Rumke P
Anticytoplasmic auto-antibodies in a patient with a sign of tumor resistance
European J Cancer 1: 321, 1965

32) Sayers I, Kirchhof M, Stechemesser E, Klöppel G, Berg PA
Nachweis komplementbindender Anti-ATPase-Antikörper in Seren von Patienten mit primär biliärer Zirrhose
Verh Dtsch Ges innere med 86: 795-799, 1980

33) Scheuer PJ
The histological diagnosis of primary biliary cirrhosis
Hepatology Rapid Literature Review 14: IX-XIII, 1985

34) Shapiro JM, Smith H, Schaffner F
Serum bilirubin: a prognostic factor in primary biliary cirrhosis
Gut 20: 137-140, 1979

35) Sherlock S
Treatment and prognosis of primary biliary cirrhosis
Sem in Liver Disease Vol 1 No 4: 354-364, 1981

36) Thomas HC
Potential pathogenic mechanism in primary biliary cirrhosis
Sem in Liver Diesease Vol 1 No 4: 338-344, 1981

37) Weber P, Brenner J, Stechemesser E, Klein R, Weckenmann U, Klöppel G, Kirchhof M, Fintelmann V, Berg PA
Characterization and clinical relevance of a new complement fixing antibody - anti-M8 - in patients with primary biliary cirrhosis
Hepatology submitted, 1985

38) Weckenmann U, Weber P, Stechemesser E, Klöppel G, Berg PA
Nachweis von Antikörper gegen ein zytoplasmatisches Antigen bei Patienten mit primär biliärer Zirrhose (PBC) und ihre Bedeutung im Hinblick auf Krankheitsaktivität und Prognose
Dt. Ges. Med. 88: 1057-1061, 1982

LEBENSLAUF

Am 13.9.1955 wurde ich, Ulrike J. Weckenmann als Tochter des Dr. med. Manfred Weckenmann und der Dr. med. Susanne Weckenmann, geborene Märtin, in Stuttgart geboren.

Von 1962 bis 1974 besuchte ich die Freie Waldorfschule Uhlandshöhe in Stuttgart. 1974 schloß ich meine Schulbildung mit der Reifeprüfung ab, im gleichen Jahr wurde ich in die Studienstiftung des deutschen Volkes aufgenommen.
Im Wintersemester 1974/75 studierte ich Philosophie, Mathematik und Physik in Stuttgart, 1975 begann ich das Medizinstudium in Stuttgart-Hohenheim und wechselte 1976 nach Tübingen über.
Ab 1978 war ich drei Jahre als studentische Nachtwache an der Chirurgischen Klinik Tübingen tätig.

Das Praktische Jahr absolvierte ich am Städtischen Krankenhaus Sindelfingen und in der Nervenklinik Tübingen. Am 13.4.1981 bestand ich den dritten Teil des Staatsexamens.

Von 1978 bis 1981 war ich mit dem experimentellen Teil meiner Doktorarbeit bei Professor P.A. Berg an der Medizinischen Klinik Tübingen beschäftigt.

Seit Januar 1982 arbeite ich als Assistenzärztin in der Abteilung für Anästhesie und Intensivmedizin am Paracelsus Krankenhaus bei Chefarzt Dr. med. H. Kleinert in Ostfildern-Ruit.